

FW 150

**WIRKUNG VERSCHIEDENER
PSYCHOTROPER SUBSTANZEN
AUF NORADRENERGE UND SEROTONERGE
NEURONE IM ZNS**

Teil I: Biochemische und neuropharmakologische
Untersuchung von Amantadin-Verbindungen

Teil II: Beitrag zur Wirkung des Serotonins auf das
Sexualverhalten bei Ratten

bücher +

Thomas Eversmann

1976
K

Aus der Psychiatrischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. Hippus

WIRKUNG VERSCHIEDENER PSYCHOTROPER SUBSTANZEN AUF
NORADRENERGE UND SEROTONERGE NEURONE IM ZNS

Teil I: Biochemische und neuropharmakologische
Untersuchung von Amantadin-Verbindungen

Teil II: Beitrag zur Wirkung des Serotonins auf das
Sexualverhalten bei Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Thomas Eversmann

aus

Göggingen

Jahr

1 9 7 5

Berichterstatter: Prof. Dr. N. Matussek

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Hippus

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 20.1.1976
.....



Die Arbeit wurde in der Zeit von März bis August 1971 am Max-Planck-Institut für Psychiatrie München, Kraepelinstrasse 2 - 3, und von Oktober bis Dezember 1971 an der Universitätsnervenklinik München, Pettenkoferstrasse, durchgeführt.

An dieser Stelle soll besonders Herrn Prof. Dr. N. Matussek, Herrn Dr. O. Benkert, Fräulein H. Gluba und Frau R. Erbe für ihre Hilfe Dank gesagt werden.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>Teil I</u>	
<u>Einleitung</u>	5
<u>Problemstellung und Zielsetzung</u>	6
<u>Material und Methoden</u>	7
<u>Ergebnisse</u>	10
1) Wirkung von Amantadin und Derivaten auf die motorische Aktivität (Abb. 1)	10
2) Benzochinolinantagonismus von Amantadin und Derivaten (Tab. 1)	12
3) Wirkung von Amantadin und einiger Derivate auf die Benzochinolinumkehr nach Desmethylimipramin	15
4) Steigerung der Wirkung von Desmethylimipramin durch Amantadin und einige Derivate (Abb. 2 - 4)	16
5) Steigerung des psychostimulierenden Amphetamineffekts durch Amantadin und einige Derivate (Abb. 5)	18
6) Wirkung von Amantadin auf die α -Methyl-p-Tyrosinester Sedation (H44/68) (Abb. 6)	20
7) Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) auf mit Reserpin- α -Methyl-p-Tyrosinester behandelte Tiere (Abb. 7)	22
8) Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach Vorbehandlung mit Diäthylthiocarbamat	24
9) Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach Vorbehandlung mit Pargylin	24

	Seite
10) Wirkung von Amantadin auf p-Chloro-phenylalanin induziertes Verhalten	25
11) Potenzierung der Dopa-Wirkung durch Amantadin	25
12) Biochemische Bestimmung der Noradrenalin- und Serotoninkonzentration im Gehirn (Tab. 2 - 4)	26
<u>Diskussion</u>	30
1) Stimulierung der Noradrenalinsynthese und Hemmung des Noradrenalinrücktransports	30
2) Hemmung der Noradrenalinsynthese	31
3) Benzochinolizin- und Amphetaminumkehrereffekt	32
4) Hemmung des Katecholamin- und Serotoninabbaus	33
5) Potenzierung des Dopa-Effekts	34
6) Hemmung der Serotoninsynthese	34
<u>Teil II</u>	36
<u>Einleitung</u>	36
<u>Problemstellung und Zielsetzung</u>	37
<u>Material und Methoden</u>	38
<u>Ergebnisse</u> (Abb. 8 - 11)	38
<u>Diskussion</u>	42
<u>Zusammenfassung</u>	44
<u>Teil III</u>	46
<u>Literaturangaben</u>	46

Teil I

Einleitung

Durch Zufallsbeobachtung wurde von Schwab und England (1969) die Antiparkinsonwirkung von Amantadin entdeckt und seitdem von vielen unabhängigen Arbeitsgruppen bestätigt. Ungefähr zur gleichen Zeit stellten Vernier u.a. (1969) auf Grund ihrer ersten Untersuchungen mit Amantadin die Vermutung auf, dass Amantadin neben der therapeutischen Wirkung beim Parkinsonismus auch antidepressive Eigenschaften besitzen müsste.

Der Effekt von Amantadin beim Parkinsonismus lässt sich gut mit der von Scatton u.a. (1970) gefundenen vermehrten Biosynthese und Freisetzung von Dopamin in Gegenwart von Amantadin im Striatum erklären. Strömberg u.a. (1971) kam mit seinen Versuchen zu den gleichen Ergebnissen. Auf eine Dopaminfreisetzung in der Peripherie jedoch nach Amantadin weisen Grelak u.a. (1970) hin. May u.a. (1971) und Ungerstedt u.a. (1970) zeigen ferner, dass Amantadin auch direkt die Dopaminrezeptoren stimuliert. Auf Grund anderer Resultate schliesst Farnebo u.a. (1971) diesen Effekt aus.

Über mögliche antidepressive Wirkungen von Amantadin dagegen lassen sich bisher noch keine genauen Aussagen

machen. Von Vale u.a. (1971) sind zwar signifikante Wirkungen bei der Therapie von Depressionen beschrieben worden, doch sollten weitere klinische Untersuchungen abgewartet werden.

In der Literatur über Amantadin kann man neben den genannten Wirkungen noch folgende Angaben finden:

Es hemmt wie tricyclische Thymoleptica die Noradrenalin-aufnahme (Baldessarini u.a., 1971), zeigt keinen Effekt auf Enzyme im Gehirn (McGeer u.a., 1972). Im Verhaltensversuch besitzt Amantadin antagonistische Wirkung gegenüber der Tetrabenazin-Sedation (Vernier u.a., 1970) und antikataleptische Wirkung (Simon u.a., 1970; Zetler u.a., 1970). Die Wirkung von Dopa wird durch Amantadin potenziert (Svensson u.a., 1970), ein Effekt, der für die Parkinsonismustherapie auch klinisch verwendet wird.

Problemstellung und Zielsetzung

Für Amantadin werden hauptsächlich folgende Wirkungen diskutiert:

- 1) Katecholamin-Freisetzung
- 2) Dopamin-Synthesesteigerung
- 3) Noradrenalin-Rücktransporthemmung

Alle bisherigen Untersuchungen von Amantadin erstreckten sich fast ausschliesslich auf die Beeinflussung des Dopamin-stoffwechsels, denn die Fragestellung ging von der thera-

peutischen Wirkung von Amantadin beim Parkinsonismus aus. Erst in jüngster Zeit kam auch eine mögliche antidepressive Wirkung von Amantadin mit in die Diskussion. Da Noradrenalin bei der Biochemie der Depression eine entscheidende Rolle zukommt, richteten sich die Untersuchungen von Amantadin mehr auf die Beeinflussung des Noradrenalin-stoffwechsels.

Die Zielsetzung vorliegender Arbeit ist es, dieser Frage durch tierexperimentelle und neuropharmakologische Untersuchungen nachzugehen, wobei neben Amantadin auch einige Amantadin-Derivate auf ihre Wirkung untersucht werden sollen.

Material und Methoden

Die Experimente wurden mit männlichen Sprague-Dawley Ratten (180 - 240 g) durchgeführt.

1) Verhaltensversuche

- a) Es wurden Gruppen von 5 - 6 Tieren beobachtet, die Kontrollgruppe jeweils zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen. Während der Beobachtung wurden die Tiere auf Käfigdeckel gesetzt. Dadurch konnte die motorische Aktivität genauer differenziert werden. In Anlehnung an Matussek u.a. (1965) lassen sich 4 Stadien unterscheiden:

Stad. 1	kataleptisches Verhalten
Stad. 2	Schlafen in der Futterkuhle des Deckels
Stad. 3	exploratorische Aktivität auf dem Deckel
Stad. 4	Hyperaktivität auf dem Deckel bzw. Herabspringen

Unter kataleptischem Verhalten versteht man, dass Tiere, die in eine ungewöhnliche Haltung gebracht werden, für längere Zeit darin verharren. Als motorisch hyperaktiv werden die Tiere bezeichnet, die unruhig auf dem Deckel herumlaufen und mindestens zweimal vom Deckel herabspringen. Dieses Verhalten ist für normale Ratten ungewöhnlich (Matussek u.a., 1965).

- b) Die motorische Aktivität wurde mit zwei äquilibrierten Animexgeräten (Sensitivity $40 \mu A$) mit automatischer Registrierung gemessen. Die Messmethode des Animex beruht auf der Änderung eines angelegten elektrischen Feldes durch sich bewegendes Versuchstiere (Svensson und Thieme, 1969). Die Impulse werden im Zähler gespeichert und nach einem variablen Zeitraum summiert. Als Zeitraum wurden entweder 30 oder 60 Minuten gewählt. Bei den Versuchen standen gleichzeitig Versuchs- und Kontrollgruppe, je 2 Tiere, jeweils in ihrem Käfig auf den Geräten. Die Versuche fanden bei künstlichem Licht statt, das sich automatisch um 7.00 Uhr ein- und um 18.30 Uhr ausschaltete.

c) Verhaltens- wie Animexversuche begannen

für den Tag um 10.00 Uhr,

für die Nacht um 18.30 Uhr.

2) Biochemische Untersuchungen

Noradrenalin und Serotonin wurden im Gesamtgehirn nach Maickel u.a. (1968) spektralfluorometrisch bestimmt.

3) Substanzen

Alle Substanzen wurden intraperitoneal, in Wasser gelöst oder in wässriger Suspension, injiziert.

Folgende Substanzen kamen zur Anwendung:

<u>N a m e</u>	<u>Kurzbezeichnung</u>
Amantadinhydrochlorid	(Ad.C1)
Amantadinsulfat	(Ad.SO ₄)
N-Methylaminoadamantanhydrochlorid	(D ₂₅)
N-Adamantylacetessigamid	(D ₃₃)
N-(dimethylaminoäthoxy)- acetylaminoadamantan	(D ₄₁)
Octoxyacetylamino-adamantan	(D ₅₈)
N ₁ -(chloracetylaminoadamantan)- nicotinamid	(D ₇₈)
1,3-Dimethyl-5-amino-adamantan	(D ₁₄₅)
1-Adamantyl-imidazolidindion-(2,5)	(D ₁₄₈)
Adamantan(2)-on	(D ₁₄₃)

<u>N a m e</u>	<u>Kurzbezeichnung</u>
Adamantan(2)-on-oxim	(D ₁₄₄)
N-D, L-α-Seryl-N-(2,3,4tri-hydroxybenzyl)-hydrazin-hydrochlorid	(Ro4-1284)
2-Hydroxy-2-äthyl-3-isobutyl-9,10-dimethoxy-1,2,3,4,6,7-hexahydroben-zochinolizin	(Ro4-1284)
Desmethylimipramin	(DMI)
L-Dopa	
d-Amphetamin	
α-Methyl-para-Tyrosin-Ester	(H 44-68)
Paragysin	
para-chlorphenyl-alanin	(PCPA)
Diäthyl-dithio-carbamat	(DDC)
α-propyl-Dopacetamid	(α-pD)

Ergebnisse

1) Wirkung von Amantadin und Derivaten auf die motorische Aktivität

- a) Zum Nachweis eigener Stimulierung der motorischen Aktivität wurden Amantadinhydrochlorid (100 mg/kg), Amantadinsulfat (100 mg/kg) und Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) (25 mg/kg) gegeben. Zwischen den beiden Amantadinsalzen ist kein Unterschied zu sehen: motorische Aktivität Stad. 2 - 3, Aktivitätsgipfel nach ca. 60 min. Nur Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅)

zeigt eine deutliche Aktivitätssteigerung (Stad. 3) gegenüber der Kontrolle, die für ca. 3 Stunden anhält. 20 Tiere wurden beobachtet, siehe auch Abb. 1.

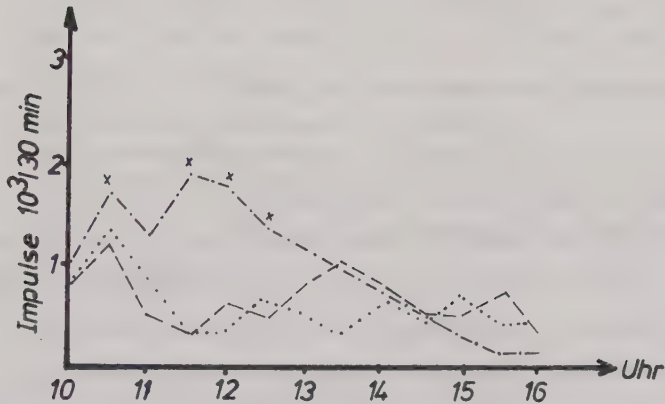


Abb. 1 Wirkung von Ad.Cl (---), Ad.SO₄ (...) und D₁₄₅ (-.-) auf die motorische Aktivität

Dosierung: Ad.Cl (100 mg/kg), Ad.SO₄ (100 mg/kg),
D₁₄₅ (25 mg/kg)

Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.

Signifikanzen: an den mit x bezeichneten Stellen
(gegenüber Ad.Cl)

Mittelwertskurve aus 4 Versuchen.

- b). Zum Nachweis eigener Stimulierung der motorischen Aktivität wurde n-Methylaminoadamantanhydrochlorid in steigender Dosierung (20 - 50 mg/kg) gegeben. Eine Steigerung konnte nicht beobachtet werden, bei hohen Dosen traten schlaffe Lähmungen auf.
- 2) Benzochinolizinantagonismus von Amantadin und Derivaten
- a) Benzochinolizin bewirkt eine starke Sedation, die ähnlich der Sedation nach Reserpin zu erklären ist (50). Diese sedative Wirkung wird benutzt, um antidepressive Eigenschaften verschiedener Drogen zu testen. Die Sedationsaufhebung ist über eine Erhöhung der NoradrenalinKonzentration am Rezeptor zu erklären (40, 54). Derart wirken z.B. tricyclische Thymoleptica, mit denen Amantadin und Derivate hinsichtlich der antidepressiven Wirkung untersucht werden sollen. Benzochinolizin (Ro4-1284; 15 mg/kg) wurde 45 min. nach Amantadin injiziert. 50 mg/kg Amantadinhydrochlorid sind in diesem Test 100 mg/kg Amantadinsulfat äquipotent. Erst bei dieser Dosierung wird die Sedation aufgehoben. Dieser Dosisunterschied ist wohl auf die geringere Wasserlöslichkeit des Sulfats zurückzuführen. Bei 200 mg/kg Amantadinsulfat treten allerdings Krämpfe als Zeichen der Überdosierung auf.

b) Am wirkungsvollsten von allen untersuchten Derivaten erwies sich Dimethylaminoadamantan (D_{145}), bei dem schon mit 5 mg/kg 80 % der Tiere hyperaktiv werden (Tab. 1). N-Methylaminoadamantan (D_{25}) erreicht die gleiche Wirkung erst mit 50 mg/kg (Tab. 1). Die anderen Derivate zeigen, wenn überhaupt, nur sehr schwache Wirkung. Dies beruht wahrscheinlich auf der stark unterschiedlichen Wasserlöslichkeit.

D_{25} , D_{28} , D_{41} , D_{78} , D_{145} sind sehr gut löslich,

D_{33} , D_{58} , D_{143} , D_{144} , D_{148} dagegen nur schwer oder nur in Alkohol.

Tab. 1: Motorische Hyperaktivität verschiedener Amantadin-Verbindungen in Kombination mit Benzochinolizin (Ro4-4602)

S u b s t a n z	Dosierung mg/kg	% hyperaktive Tiere
Ad.C1	(50)	50
Ad.SO ₄	(50)	0
Ad.SO ₄	(100)	50
Ad.SO ₄	(150)	50
Ad.SO ₄	(200)	80
D ₁₄₅ C-Alkyladamantylamin	(50)	100
D ₁₄₅ "	(10)	90
D ₁₄₅ "	(5)	80
D ₁₄₅ "	(1)	0
D ₂₅ N-Methylamino-Ad.C1	(50)	80
D ₂₅ "	(20)	10
D ₂₅ "	(10)	0
D ₂₈ NN-Dimethylamino-Ad.C1	(50)	50
D ₄₁ N-(Dimethylamino-äthoxy)- acetylamino-Ad.	(70)	50
D ₇₈ N-(chloracetylaminoadamantan)- nicotinamid	(50)	0
D ₃₃ N-Adamantylacetessigamid	(70)	50
D ₅₈ Octoxyacetylaminoadamantan	(70)	0
D ₁₄₃ Adamantan(2)-on	(70)	0
D ₁₄₄ Adamantan(2)-on-oxim	(70)	0
D ₁₄₈ 1-Adamantylimidazolidindion-(2,5)	(70)	0
Adamantan-carbonsäuredopamid	(50) *	0

Amantadin wurde in der in Klammern angegebenen Dosierung 45 Minuten vor Ro4-4602 (15 mg/kg) injiziert.
In jeder Gruppe wurden 10 - 15 Tiere verwendet.

* in 70 % Äthanol gelöst injiziert

3) Wirkung von Amantadin und einiger Derivate auf die Benzochinolizin-Umkehr nach Desmethyylimipramin

Benzochinolizin besitzt eine reserpinähnliche sedierende Wirkung, die durch Desmethyylimipramin aufgehoben wird (5). Desmethyylimipramin hemmt den Noradrenalinrücktransport und erhöht damit die NoradrenalinKonzentration am Rezeptor. Die Injektion von Desmethyylimipramin ruft bei den mit Benzochinolizin vorbehandelten Tieren eine Hyperaktivität hervor (30). Wird Amphetamin noch nachinjiziert, so tritt erstaunlicherweise keine weitere Aktivitätssteigerung ein, sondern eine Sedation. Dieser Amphetamin-Umkehrereffekt beruht auf einer vermehrten Bildung von Normetanephrin gegenüber einer verminderten Konzentration an Noradrenalin (24).

In diesem Test soll geprüft werden, ob Amantadin wie Amphetamin eine paradoxe Wirkung zeigt. Benzochinolizin (15 mg/kg) wird 45 min. nach Desmethyylimipramin (20 mg/kg) injiziert. Sobald die Tiere aus der Sedation in Hyperaktivität kommen, wird Dimethylaminoadamantan (D_{145} ; 20 mg/kg) bzw. Amantadinsulfat (100 mg/kg) gespritzt. 30 min. nach der Injektion ist wieder starke motorische Aktivität zu sehen (Stad. 4). Die Aktivität hält nach Dimethylaminoadamantan (D_{145}) für ca. 5 Stunden an, während nach Desmethyylimipramin + Benzochinolizin die Tiere nur für ca. 3 Stunden aktiv bleiben. Nach Amantadinsulfat lässt sich keine Steigerung erkennen. Die Beobachtung erfolgte über einen Zeitraum von 8 Stunden.

4) Steigerung der Wirkung von Desmethylimipramin durch Amantadin und einige Derivate

Desmethylimipramin hemmt den Noradrenalinrücktransport (20, 42). Eine Verstärkung dieser Wirkung durch Amantadin liesse sich durch eine zusätzliche Hemmung oder indirekte vermehrte Freisetzung von Noradrenalin, ähnlich Amphetamin, erklären.

Es wurden Amantadinhydrochlorid, -sulfat, n-Methylaminoadamantan (D_{25}) und Dimethylaminoadamantan (D_{145}) untersucht (Abb. 2). Die deutlichste Steigerung der motorischen Aktivität ergab sich nach Dimethylaminoadamantan (D_{145}), während n-Methylaminoadamantan (D_{25}) ohne Effekt bleibt. Amantadinsulfat bewirkt eine etwas länger anhaltende motorische Aktivität als Amantadinhydrochlorid, beide erreichen aber nicht die Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}).

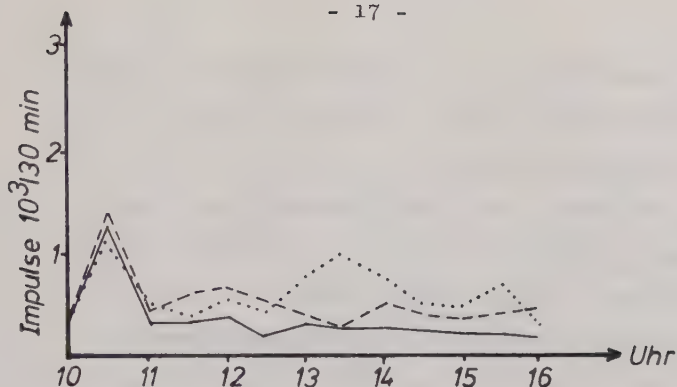


Abb. 2 Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach Vorbehandlung mit Desmethylimipramin (DMI)

Ad.C1 + DMI (---), Ad.C1 (...), DMI (—)

Dosierung: Ad.C1 (50 mg/kg), 30 min. nach DMI (20 mg/kg)

Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.

Mittelwertskurve aus 4 Versuchen.

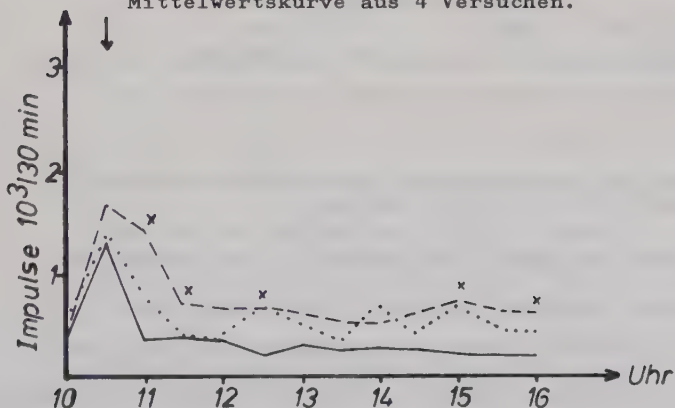


Abb. 3 Wirkung nach Amantadin auf die motorische Aktivität nach Desmethylimipraminvorbehandlung

Ad.SO₄ + DMI (---), Ad.SO₄ (...), DMI (—)

Dosierung: Ad.SO₄ (100 mg/kg), 30 min. nach DMI (20 mg/kg)

Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.

Signifikanzen: an den mit x bezeichneten Stellen

Mittelwertskurve aus 7 Versuchen.

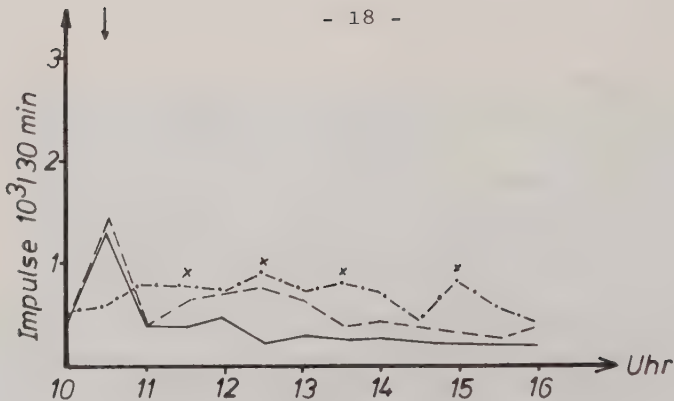


Abb. 4 Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) u. n-Methylaminoadamantan (D_{25}) auf die motorische Aktivität nach Desmethylimipramin

$D_{145} + DMI$ (---), $D_{25} + DMI$ (-.-), DMI (—)

Dosierung: D_{145} (20 mg/kg), D_{25} (20 mg/kg), je 3 min. nach DMI (20 mg/kg)

Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.

Signifikanzen: an den mit x bezeichneten Stellen Mittelwertskurve aus 3 bzw. 5 Versuchen.

5) Steigerung des psychostimulierenden Amphetamineffekts durch Amantadin und einige Derivate

Die Wirkung von Amphetamin beruht auf Freisetzung und Rücktransporthemmung von Noradrenalin und Dopamin.

Desmethylimipramin vermag diesen Effekt von Amphetamin noch zu verstärken. Im Vergleich zur Wirkung von Desmethylimipramin soll Amantadin auf eine evtl. Hemmung des Noradrenalinrücktransports untersucht werden (8, 9, 13, 20, 42, 48).

- a) Bei Verhaltensversuchen wird Amantadinhydrochlorid (50 mg/kg), n-Methylaminoadamantanhydrochlorid (D₂₅, 25 mg/kg), Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) mit Amphetamin (6 mg/kg) kombiniert. Amantadin und die Derivate werden jeweils 30 min. nach Amphetamin injiziert. Die motorische Aktivität wurde durch Amphetamin erhöht (Stad. 3), sie erreichte einen Gipfel nach ca. 1 Stunde und hielt für ca. 3 Stunden an. Stereotypien, die nach Amphetamin auftreten, wurden nicht verstärkt. Bei den Versuchen wurden 20 Tiere für 4 Stunden beobachtet.
- b) Der gleiche Versuch wurde am Animex durchgeführt, um den Verlauf der motorischen Aktivität über 12 Stunden zu sehen. Amantadinhydrochlorid vermag nach 3 mg/kg Amphetamin die motorische Aktivität zu steigern (Abb. 5). Dieser Effekt kann nach dem Sulfat nicht beobachtet werden. Die deutlichste Wirkung ist nach Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) zu sehen.

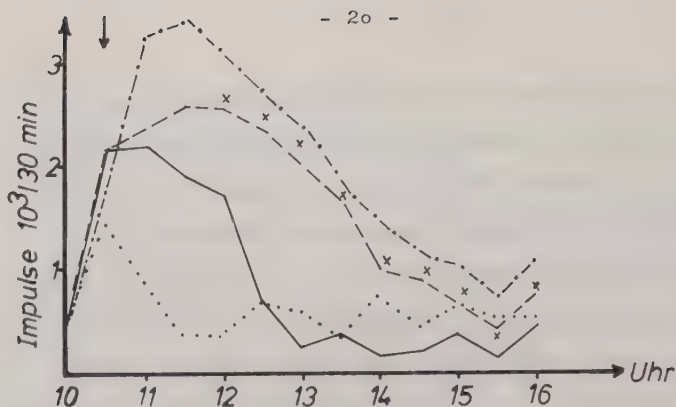


Abb. 5 Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach Amphetamin

Amphetamin + Ad.C1 (---), + Ad.SO₄ (....), + D₁₄₅ (-.-),
Amphetamin (—)

Dosierung: Ad.C1 (50 mg/kg), Ad.SO₄ (100 mg/kg),
D₁₄₅ (25 mg/kg), jeweils 30 min. nach
Amphetamin (3 mg/kg)

Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.

Signifikanzen: an den mit x bezeichneten Stellen
Mittelwertskurve aus 4 Versuchen.

6) Wirkung von Amantadin auf die α -Methyl-p-Tyrosinester Sedation (H44/68)

Der α -Methyl-p-Tyrosinester (H44/68) hemmt die Tyrosinhydroxylase und blockt damit die Noradrenalin synthese (7). Die Konzentration an Noradrenalin sinkt stark, nachts tritt eine starke Dämpfung der Aktivität ein. Hebt Amantadin die Sedation auf, so müsste es vermehrt Noradrenalin freisetzen.

Um 18 Uhr abends wird den Tieren a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68), 30 Minuten später Amantadinhydrochlorid bzw. Amantadinsulfat injiziert. Gleich danach schaltet sich das Licht aus. Die motorische Aktivität wird über 2 Tage mit dem Animex (Abb. 6) registriert. a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68) setzt die Nachtaktivität in der ersten Nacht stark, in der zweiten total herab. Amantadinhydrochlorid und -sulfat können diese Sedation weder in der ersten noch in der zweiten Nacht aufheben.

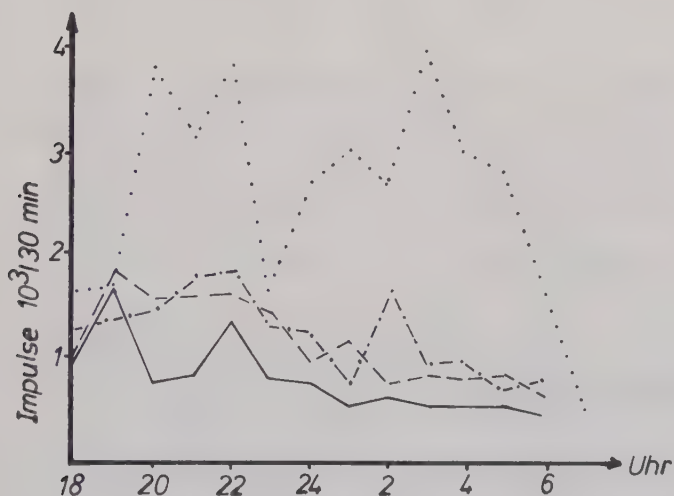


Abb. 6 Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach H44/68 Vorbehandlung
Ad.Cl + H 44/68 (---), Ad.SO₄ + H 44/68 (-.-),
H44/68 (—), Kontrollen (...)
Dosierung: Ad.Cl (50 mg/kg), Ad.SO₄ (100 mg/kg),
H44/68 (200 mg/kg)
Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.
Mittelwertskurve aus 4 Versuchen.

7) Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) auf mit Reserpin+a-Methyl-p-Tyrosinester behandelte Tiere

Durch Reserpingabe werden die Katecholaminspeicher in den Nervenendigungen zerstört, die Erregungsfortleitung über die Katecholamine wird damit unterbrochen (18). Eine weitere Möglichkeit der Erregungsbildung, die de novo-Synthese, wird durch a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68) unterbunden, das die Katecholaminsynthese hemmt (7).

Um zu prüfen, ob Dimethylaminoadamantan (D_{145}) direkt an den Katecholaminrezeptoren wirkt, wurden die Tiere mit Reserpin+a-Methyl-p-Tyrosinester vorbehandelt. Nach dieser Behandlung liegt kein verfügbares Dopamin oder Noradrenalin mehr vor, da sowohl die Reserpinspeicher entleert sind als auch durch Hemmung der Biosynthese kein neu synthetisiertes Noradrenalin zur Verfügung steht.

a) Reserpin (5 mg/kg) wird 5 Stunden vor a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68; 200 mg/kg) injiziert. 1 Stunde nach a-Methyl-p-Tyrosinester wird Dimethylaminoadamantan (D_{145} ; 5, 10, 20 mg/kg) nachgespritzt. 5 min. nach der Injektion von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) tritt eine Hyperaktivität ein, deren Ausmaß weit über der Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) allein liegt.

Die Hyperaktivität hält 30 min. an; währenddessen ist konvulsivisches Verhalten, starke Ptosis und Tremor zu beobachten. 20 mg/kg Dimethylaminoadamantan (D_{145}) haben toxische Nebenwirkungen, 2 von 5 Tieren sterben. Die optimale Dosierung lag bei 10 mg/kg. 20 Tiere wurden über 7 Stunden beobachtet, 16 Tiere am Animex gemessen (Abb. 7).

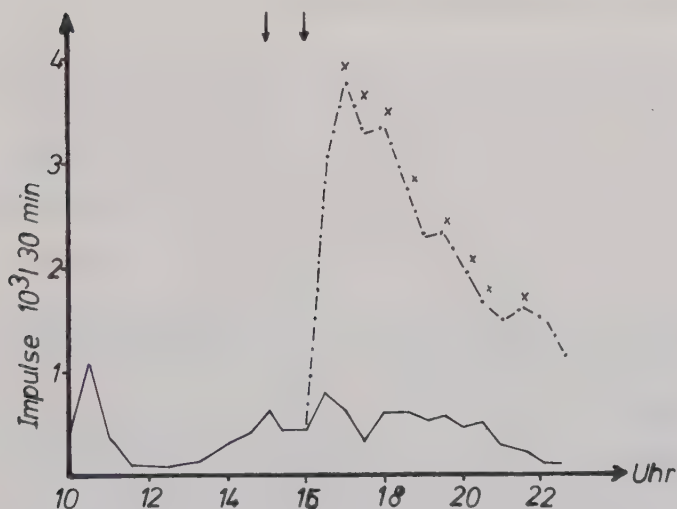


Abb. 7 Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) nach Vorbehandlung mit Reserpin + α -Methyl-p-Tyrosinester (H44/68)

D_{145} + Reserpin + H44/68 (---), Reserpin + H44/68 (—)

Dosierung: Reserpin (5 mg/kg) 5 Stunden vor H44/68 (200 mg/kg), 1 Stunde danach D_{145} (10 mg/kg)

Ordinate: Impulse $\times 10^3/30$ min.

Signifikanzen: an den mit x bezeichneten Stellen
Mittelwertskurve aus 4 Versuchen.

8) Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach Vorbehandlung mit Diäthylthiocarbamat

Diäthylthiocarbamat hemmt die Synthese von Noradrenalin. Die Folge ist eine starke Sedation (20). Tritt nach Amantadin eine Steigerung der motorischen Aktivität auf, so könnte diese Wirkung durch eine dopaminerge Erregung auf eine Dopaminfreisetzung durch Amantadin oder direkte Wirkung am NA-Rezeptor zurückgeführt werden.

Im Verhaltensversuch wird Diäthylthiocarbamat (300 mg/kg) 30 min. vor Amantadinhydrochlorid (50 mg/kg) injiziert. Nach der Injektion von Amantadin ist keine motorische Aktivität zu beobachten, die Tiere (8) bleiben während der fünfstündigen Beobachtung gedämpft.

9) Wirkung von Amantadin auf die motorische Aktivität nach Vorbehandlung mit Pargylin

Pargylin hemmt die Monoaminoxidase und erhöht damit die Noradrenalkonzentration in den Nervenendigungen. Setzt Amantadin Noradrenalin aus den Nervenendigungen frei, so müsste eine Steigerung der motorischen Aktivität zu erwarten sein (23).

Pargylin (100 mg/kg) wird 18 Stunden vor Amantadinhydrochlorid (50 mg/kg) bzw. -sulfat (100 mg/kg) injiziert. 15 Tiere wurden für 3 Stunden beobachtet. Beide Amantadinverbindungen bewirken eine leicht erhöhte motorische Aktivität (Stad. 3), die 2 Stunden anhält.

10) Wirkung von Amantadin auf p-Chlorophenylalanin induziertes Verhalten

P-Chlorophenylalanin hemmt die Tryptophanhydroxylase und damit die Serotoninsynthese (16). Eine Erniedrigung des Serotoninturnovers ist korreliert mit einem gesteigerten Sexualverhalten (siehe Seite 42). Untersucht werden sollte, ob Amantadin in Anlehnung an die Dopa-Experimente des II. Teils der Arbeit eine Steigerung des Sexualverhaltens bewirkt.

P-Chlorophenylalanin (100 mg/kg) wird an jeweils drei aufeinanderfolgenden Tagen gegeben, am vierten Tag Amantadinhydrochlorid (50 mg/kg) bzw. -sulfat (100 mg/kg). Bei Infrarotlicht werden die Tiere (12) von 18 - 22 Uhr beobachtet (siehe Seite 38). In Kombination mit Amantadinhydrochlorid ist vereinzelt "fighting", nur einmal "mounting" und erhöhte motorische Aktivität zu sehen. Die Aktivität hält etwa 3 Stunden (Stad. 3) an. Amantadinsulfat zeigt keine Wirkung.

11) Potenzierung der Dopa-Wirkung durch Amantadin

Die Dopamin freisetzende Wirkung von Amantadin stellte Grelak u.a. (1972) fest. Hier sollte festgestellt werden, ob Amantadin die Wirkung von L-Dopa auf das Sexualverhalten noch verstärken würde (12, 25).

- a) Der Decarboxylasehemmer Ro 4-4602 (50 mg/kg) wird 15 min. nach Amantadinhydrochlorid (50 mg/kg), L-Dopa (200 mg/kg) 45 min. nach Amantadin injiziert.

Die Summe der einzelnen "fightings" ist gegenüber der Kontrollgruppe mit L-Dopa+Ro 4-4602 deutlich erhöht (48 : 9), ebenso die motorische Aktivität (Stad. 4) und Stereotypien. Die motorische Aktivität hält für 2 Stunden an, die Beobachtung erstreckt sich über 3 Stunden (16 Tiere).

- b) L-Dopa ohne Ro 4-4602 zeigt mit 100 mg/kg noch keinen Effekt auf die motorische Aktivität; erst mit 500 mg/kg ist eine Steigerung (Stad. 2 - 3) zu sehen. Allerdings wirkt L-Dopa in diesem Versuch stark toxisch, 3 von 8 Tieren starben.

12) Biochemische Bestimmung der Noradrenalin- und Serotonininkonzentration im Gehirn

- a) Wirkung von Amantadin und Dimethylaminoadamantan (D_{145}) auf die Noradrenalininkonzentration im Gehirn

Aus dem Vergleich zwischen den Kontrollen (0,38 $\mu\text{g/g}$ Hirn) und Amantadin (0,42 $\mu\text{g/g}$ Hirn) lässt sich ersehen, dass die Noradrenalininkonzentration durch Amantadin nicht nennenswert verändert wird (Tab. 2). Nach Dimethylaminoadamantan (D_{145}) dagegen ist die Konzentration an Noradrenalin (0,49 $\mu\text{g/g}$ Hirn) gegenüber den Kontrollen (0,38 $\mu\text{g/g}$ Hirn) signifikant erhöht, was in Übereinstimmung mit obigen Versuchsergebnissen auf ein anderes Wirkungsprofil von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) im Vergleich zu Amantadin schließen lässt. Dimethylaminoadamantan (D_{145}) kann im Unterschied zu Amantadin wohl auch Noradrenalin bilden.

Tab. 2: Einfluss von Ad.Cl auf den Noradrenalingehalt (NA) im Gehirn

	NA ($\mu\text{g/g}$)	5-HT ($\mu\text{g/g}$)
Kontrollen	$0,38 \pm 0,04$	$0,72 \pm 0,04$ (8)
Ad.Cl (50 mg/kg) ¹⁾	$0,42 \pm 0,03$	$0,73 \pm 0,05$ (10)
D ₁₄₅ (25 mg/kg) ²⁾	$0,49 \pm 0,03$	(5)

¹⁾ Ad.Cl wurde 2 Stunden vor dem Töten injiziert

²⁾ D₁₄₅ wurde 2 Stunden vor dem Töten injiziert

In Klammern am Ende jeder Zeile ist die Anzahl der Hirne für die Doppelbestimmung nach Maickel (26) angegeben.

- b) Wirkung von Amantadin bzw. Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) und a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68) auf die NoradrenalinKonzentration im Gehirn

a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68) hemmt die Tyrosinhydroxylase, blockt damit die Noradrenalinsynthese (7).

Die NoradrenalinKonzentration wird stark vermindert, eine weitere Verminderung tritt bei erneuter Freisetzung durch Umsetzung am Rezeptor ein. Amantadinhydrochlorid und Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) solltendarauffin untersucht werden.

Nach Amantadinhydrochlorid bleibt die NoradrenalinKonzentration unverändert (Tab. 3), nach Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) ist die Konzentration noch stärker vermindert, der Turnover erhöht. Im Unterschied zu den anderen Amantadinverbindungen setzt Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) Noradrenalin frei.

Tab. 3: Einfluss von Amantadinhydrochlorid (Ad.Cl) und Dimethylaminoadamantan (D₁₄₅) auf die Noradrenalin-konzentration (NA) im Gehirn nach Vorbehandlung mit a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68)

	NA ($\mu\text{g/g}$)	
Kontrollen	$0,38 \pm 0,04$	(8)
H 44/68 (200 mg/kg) ¹⁾	$0,21 \pm 0,02$	(5)
Ad.Cl (50 mg/kg) + H44/68 (200 mg/kg) ²⁾	$0,22 \pm 0,02$	(5)
D ₁₄₅ (25 mg/kg) + H44/68 (200 mg/kg) ³⁾	$0,16 \pm 0,04$	(5)

1) H44/68 wurde 4 Stunden vor dem Töten injiziert

2) Ad.Cl wurde 30 min. nach H44/68 injiziert, Tötung nach 4 Stunden

3) D₁₄₅ wurde 30 min. nach H44/68 injiziert, Tötung nach 4 Stunden

In Klammern am Ende jeder Zeile die Anzahl der Tiere Doppelbestimmung nach Maickel (26).

c) Wirkung von Amantadin auf die Noradrenalin- und Serotoninkonzentration im Gehirn nach p-Chlorophenylalanin-Behandlung

p-Chlorophenylalanin hemmt die Tryptophanhydroxylase und senkt damit die Serotoninkonzentration im Gehirn stark. Die Noradrenalinkonzentration ist kaum verändert (16; Tab. 4). Nach der Vorbehandlung mit p-Chlorophenylalanin sollte untersucht werden, ob Amantadin über eine Noradrenalinwirkung das durch p-Chlorophenylalanin ausgelöste gesteigerte Sexualverhalten oder die Serotoninkonzentration beeinflusst. Amantadin zeigte in beiden Fragen keine Wirkung, das Sexualverhalten wie die Serotoninkonzentration blieben unverändert.

Tab. 4: Einfluss von Ad.Cl auf Noradrenalin- und Serotoninkonzentration im Gehirn nach PCPA-Vorbehandlung

	NA ($\mu\text{g/g}$)	5-HT ($\mu\text{g/g}$)	
Kontrollen	$0,38 \pm 0,04$	$0,72 \pm 0,04$	(8)
PCPA (350 mg/kg) ¹⁾	$0,46 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,03$	(5)
Ad.Cl (50 mg/kg) ²⁾ PCPA (350 mg/kg)	$0,40 \pm 0,03$	$0,39 \pm 0,04$	(5)

1) PCPA wurde 8 Stunden vor dem Töten injiziert

2) 1 Stunde nach PCPA wurde Ad.Cl injiziert, 8 Stunden nach PCPA wurden die Tiere dekapitiert

In Klammern am Ende jeder Zeile ist die Anzahl der Hirne für die Doppelbestimmung nach Maickel (26) angegeben.

Diskussion

- 1) Stimulierung der Noradrenalinsynthese und Hemmung des Noradrenalinrücktransports

Desmethyylimipramin verstärkt die Amphetaminwirkung (48, 33) nicht nur über eine Beeinflussung des Amphetaminstoffwechsels, sondern an der Verstärkung der psychostimulierenden Wirkung ist die durch Amphetamin bedingte Noradrenalinzunahme am Rezeptor und die Hemmung des Noradrenalinrücktransports durch Desmethyylimipramin wesentlich beteiligt (13, 24). Vernier u.a. (1969) zeigt schon, dass Amantadin die Noradrenalin Aufnahme am Herzen hemmt. Wenn Amantadin diese Wirkung auch zentral besitzt, dann sollte Amantadin die Amphetaminwirkung wie Desmethyylimipramin verstärken. Abb. 5 zeigt, dass Amantadin den psychostimulierenden Amphetamineffekt steigert, wenn auch nicht im gleichen Maße wie Desmethyylimipramin.

Amantadinhydrochlorid und -sulfat, allein verabfolgt, zeigen eine 100 - 200fach geringere Wirkung als Amphetamin (50). Beide Amantadinsalze steigern gering, an einzelnen Punkten signifikant, die motorische Aktivität nach Desmethyylimipramin (Abb. 2 - 4). Aus diesen Ergebnissen kann man schliessen, dass Amantadin Noradrenalin freisetzt, wenn auch nicht in gleichem Maße wie Amphetamin (1, 12). Dies bestätigen die biochemischen Befunde nicht (Tab. 2, 3).

Strömberg u.a. (1970) dagegen zeigte, dass Amantadin Katecholamine freisetzte und vermutete eine amphetaminähnliche Wirkung. Für Amantadin müssen sowohl die Freisetzung als auch die Hemmung des Noradrenalinrücktransports diskutiert werden.

2) Hemmung der Noradrenalin synthese

- a) Nach Corrodi u.a. (1970) hemmt α -Methyl-p-Tyrosinester die Tyrosinhydroxylase und blockt damit die Biosynthese der Katecholamine, die eng mit der motorischen Aktivität korreliert ist (29, 9). Die fast vollständige Hemmung der Nachtaktivität durch α -Methyl-p-Tyrosinester wird durch den Katecholaminmangel verständlich. Eine Aufhebung der Sedation ist durch eine vermehrte Freisetzung von Katecholaminen, insbesondere von Noradrenalin oder eine direkte Rezeptorwirkung möglich.

Amantadin vermag die Sedation nicht aufzuheben. Auch eine Beeinflussung des Noradrenalinstoffwechsels liess sich hier nicht nachweisen.

Dagegen war nach Dimethylaminoadamantan (D_{145}) eine Verminderung der Noradrenalin konzentration sowie eine Aufhebung der Sedation zu sehen. Für Dimethylaminoadamantan (D_{145}) müssen zwei Wirkungsmechanismen angenommen werden. Zum einen eine Freisetzung von Noradrenalin, zum andern eine direkte Rezeptorwirkung, die aus der Hyperaktivität nach Reserpin + α -Methyl-p-Tyrosinester-

Vorbehandlung zu folgern ist. Auch bei diesem Versuch blieb Amantadin ohne Effekt.

- b) Diäthylthiocarbamat hemmt die Dopamin- β -Hydroxylase und damit die Katecholaminsynthese (20). Eine Aufhebung der daraus folgenden Sedation könnte durch dopaminerge Erregungen oder direkte Wirkung auf den Noradrenalinrezeptor erklärt werden. Nach Grelak u.a. (1970) und Scatton u.a. (1970) setzt Amantadin Dopamin frei; eine direkte Rezeptorwirkung wurde bisher nicht beschrieben. In Bezug auf die motorische Aktivität liess sich nach Amantadin kein Effekt nachweisen.

3) Benzochinolizin- und Amphetaminumkehreffekt

- a) Benzochinolizin hat wie Tetrabenazin eine stark sedierende Reserpin-ähnliche Wirkung. Vernier u.a. (1969) untersuchte den Tetrabenazinantagonismus von Amantadin im Hinblick auf exploratorische Aktivität und Ptosis. Die motorische Hyperaktivität nach Benzochinolizin und Desmethylimipramin beschreibt Bickel u.a. (1963); nach beiden Drogen kommen 70 % der Tiere in motorische Hyperaktivität. Demgegenüber werden 80 % schon nach 5 mg/kg Dimethylaminoadamantan (D_{145}) hyperaktiv, das sich auch hier am wirkungsvollsten erweist, während die anderen Amantadinderivate noch schwächer als Desmethylimipramin wirken.

b) Amphetamin bewirkt nach Benzochinolizin + Desmethylimipramin eine Sedation, den sog. Amphetaminumkehreffekt (24). Sowohl Amantadin wie Dimethylaminoadamantan (D_{145}) zeigten keine paradoxe Wirkung, so dass auch hier nicht von einer Amphetamin-ähnlichen Wirkung gesprochen werden kann.

4) Hemmung des Katecholamin- und Serotoninabbaus

Die Wirkung von Pargylin beruht auf der Hemmung der Monoaminoxidase (18), wodurch in den Nervenendigungen vermehrt Noradrenalin gespeichert wird. Pargylin verlangsamt den Noradrenalinturnover und hemmt die Synthese, vermutlich über eine negative "feed-back"-Hemmung der Tyrosinhydroxylase. Die Hemmung der Monoaminoxidase hat ausserdem eine Akkumulation von Dopamin zur Folge. Pargylin allein zeigt keine Wirkung auf die motorische Aktivität. Mit Amantadin zusammen sieht man eine Steigerung, die eigentlich nur durch eine Erhöhung der NoradrenalinKonzentration am Rezeptor zustande kommen kann, denn eine direkte Rezeptorwirkung von Amantadin muss aufgrund der obigen Ergebnisse ausgeschlossen werden.

5) Potenzierung des Dopa-Effekts

Amantadin setzt zentral Dopamin frei (12). L-Dopa in Kombination mit einem Decarboxylasehemmer (Ro 4-4602) verstärkt die Wirkung von Amantadin (25), indem beide Substanzen die Konzentration von Dopamin erhöhen.

Nach Behandlung zeigen die Tiere erhöhte Erreichbarkeit, Piloerektion, Tremor und Aggressivität (25).

Speziell nach L-Dopa in Verbindung mit dem Decarboxylasehemmer (Ro 4-4602) auftretendes Sexualverhalten wie "fighting" und "mounting behaviour" werden von Amantadin verstärkt, insbesondere "fighting".

6) Hemmung der Serotoninsynthese

p-Chlorophenylalanin blockt über eine Hemmung der Tryptophanhydroxylase den Serotoninstoffwechsel, die Noradrenalin- und Dopaminkonzentration werden nur gering gesenkt (16, 25). Charakteristisch für p-Chlorophenylalanin ist seine starke Wirkung auf das Sexualverhalten, dessen Ausprägung in direkter Relation zum Serotoninspiegel steht. Es induziert ungewöhnlich starkes "mounting", "fighting" dagegen kaum.

Hier stellt sich die Frage, ob man mit Amantadin über seine Wirkung auf den Noradrenalinstoffwechsel das Sexualverhalten nach p-Chlorophenylalanin beeinflussen könnte. Entsprechende Versuche fanden in Anlehnung an

Teil II (s. S. 38 f.) statt, mit dem Unterschied, dass die Versuche am Vormittag begannen. Die natürlicherweise geringere Tagesaktivität schlägt sich in einem geringeren "mounting" nieder. Mit Amantadin konnte keine weitere Steigerung des Sexualverhaltens erreicht werden.

Teil II

Einleitung

In den letzten Jahren wurde sehr intensiv an der Untersuchung der stimulierenden Wirkung von p-Chlorophenylalanin auf das Sexualverhalten von Tieren gearbeitet. Nach p-Chlorophenylalanin ließ sich ein gesteigertes "mounting behaviour" bei männlichen Ratten nachweisen (41, 42, 49). Kopulierendes Verhalten bei männlichen (38) und Brunstverhalten bei weiblichen Ratten (32) wurden durch p-Chlorophenylalanin verstärkt. Gegenteilige, jedoch speziesspezifische Befunde sind auch beschrieben worden (57).

Die wichtige Rolle von Testosteron bei der stimulierenden Wirkung von p-Chlorophenylalanin auf das "mounting behaviour" (19) und kopulierendes Verhalten (31) bei männlichen Ratten wurde ebenso aufgezeigt.

P-Chlorophenylalanin hemmt die Biosynthese von Serotonin (26). Auch L-Dopa senkt die Serotoninkonzentration, die Dopaminkonzentration dagegen steigt an (2, 3, 10). Dieser Effekt wird noch durch die Gabe eines Decarboxylasehemmers (Ro 4-4602) verstärkt (5, 6).

Eine ähnliche Wirkung auf das Sexualverhalten wie p-Chlorophenylalanin wurde auch bei anderen Serotoninantagonisten festgestellt. Der antiserotonerge Effekt von Mesorgydin ist von Votava u.a. (1961), der von Methysergid, bisher benutzt

zur Therapie der Migräne, bei Goodman and Gillman (1972) beschrieben. Die neue Substanz WA 335-BS besitzt neben einer antiserotonergen auch histaminerge Wirkung (15).

Problemstellung und Zielsetzung

- 1) Keller stellt bei seinen Versuchen an Katzen fest, dass p-Chlorophenylalanin nicht selektiv die Serotoninkonzentration senkt, sondern daneben eine lang anhaltende und signifikante Senkung der Noradrenalin- und Dopaminkonzentration bewirkt (25). Beruht nun das Sexualverhalten, induziert durch p-Chlorophenylalanin, auf einer allgemeinen Senkung der Serotoninkonzentration im Gehirn oder auf einer spezifischen Wirkung der Substanz p-Chlorophenylalanin?
- 2) Inwieweit lässt sich eine ähnliche Wirkung auf das Sexualverhalten auch mit den anderen Serotoninantagonisten erreichen?
- 3) Wird das Sexualverhalten allein von der Serotoninkonzentration oder auch von der Noradrenalin- bzw. der Dopaminkonzentration beeinflusst?
- 4) Welche Rolle spielt Testosteron bei der Wirkung von p-Chlorophenylalanin auf das Sexualverhalten im Vergleich mit den anderen Serotoninantagonisten bzw. für sich allein?

Material und Methoden

Verwendet wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten (Gewicht 250 - 300 gr.). Die Tiere wurden 4 Tage vor Versuchsbeginn in einem Raum mit künstlichem Licht isoliert. Das Licht schaltete sich automatisch um 18.30 Uhr für 12 Stunden aus. Ab diesem Zeitpunkt registrierten zwei Beobachter das Verhalten der Tiere. Bei Versuchsbeginn wurden jeweils 4 Tiere in einen Käfig zusammengesetzt. Die Anzahl der "mountings" und "fightings" innerhalb von 3 Stunden wurde über jeweils 15 min. aufaddiert. Testosteronpropionat (10 mg/kg), in Sesamöl aufgelöst, wurde an 4 aufeinanderfolgenden Tagen s.c. gespritzt, die letzte Dosis 5 1/2 Stunden vor Versuchsbeginn; p-Chlorophenylalanin (100 mg/kg) wurde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen, die letzte Dosis 24 Stunden vor Versuchsbeginn i.p. verabreicht. Methysergid (1 mg/kg), Mesorgydin (0,5 mg/kg) und WA 335-BS (0,1 mg/kg) wurden jeweils 2 Stunden vor Versuchsbeginn i.p. injiziert. Ro 4-4602 (50 mg/kg) wurde 45 min. zuvor, L-Dopa (200 mg/kg) zum Beginn gespritzt.

Ergebnisse

Anhand der Abb. 8 - 11 (s. S. 40 und 41) lässt sich ersehen, dass nach Testosteron plus p-Chlorophenylalanin der weitaus stärkste Anstieg zu verzeichnen ist. Die "mountings" sind innerhalb der ersten 120 min. besonders häufig. Nach Mesorgydin, Methysergid und WA 335-BS in Kombination mit

Testosteron waren die "mountings" innerhalb der ersten 120 min. deutlich geringer als nach p-Chlorophenylalanin. Gegen Ende der Beobachtungszeit nahm das "mounting behaviour" langsam ab. 12 Ratten wurden mit Testosteron allein behandelt; davon zeigten 2 Ratten sehr vereinzelt "mounting", ca. 1 mal/15 min. Nach p-Chlorophenylalanin, Mesorgydin, Methysergid und WA 335-BS allein war signifikant seltener "mounting" zu sehen als in Kombination mit Testosteron. "Fighting" trat bei all diesen Versuchen sehr selten auf.

Bei der Kombination von p-Chlorophenylalanin bzw. den anderen Serotoninantagonisten mit L-Dopa plus Ro 4-4602 drehte sich das Häufigkeitsverhältnis zwischen "mountings" und "fights" um, die "fights" lagen innerhalb der ersten 60 min. deutlich höher, um dann langsam abzufallen. Die "mountings" blieben durchwegs auf niedrigem Niveau.

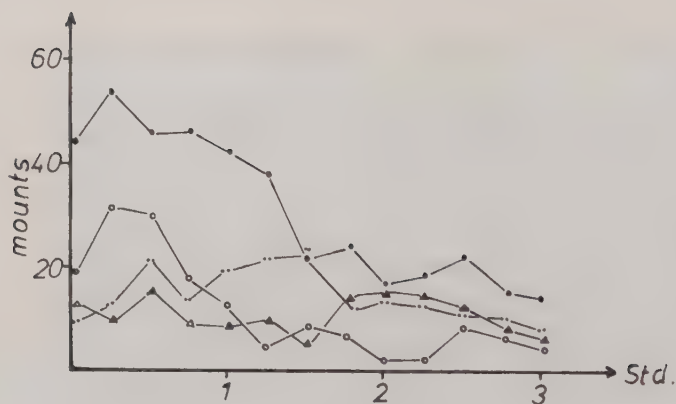


Abb. 8,9: Mounts und fights nach Serotoninantagonisten plus Testosteron

Testosteron+PCPA (.-.),
 Testosteron+Mesorgydin (o-o),
 Testosteron+Methysergid (Δ-Δ),
 Testosteron+WA 335-BS (.....).

Dosierung: Testosteron (4 x 10 mg/kg),
 PCPA (3 x 100 mg/kg),
 Methysergid (1 mg/kg),
 Mesorgydin (0,5 mg/kg),
 WA 335-BS (0,1 mg/kg) (s. auch S. 39).

Ordinate: Anzahl mounts bzw. fights/15 min.

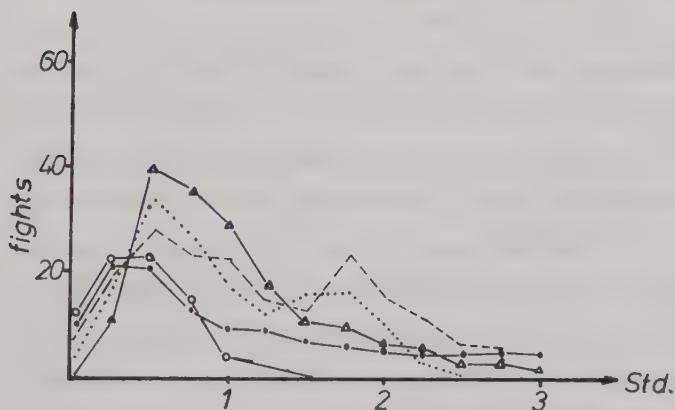
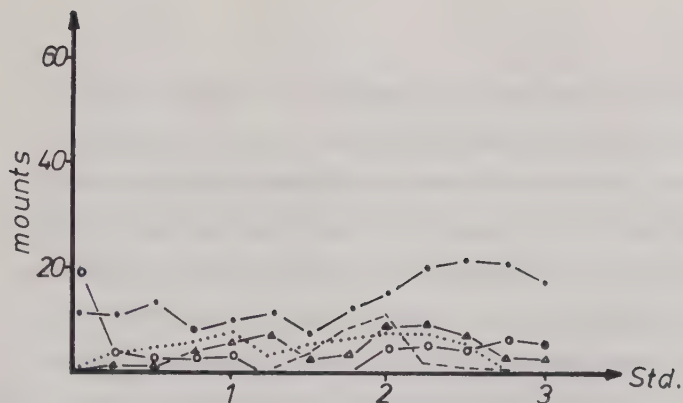


Abb. 10, 11: Mounts und fights nach Serotoninantagonisten, in Kombination mit Testosteron und Ro 4-4602 plus L-Dopa

Testosteron+PCPA, Ro-Dopa (.-.),
 Testosteron+Mesorpydin, Ro-Dopa (o-o).
 Testosteron+Methysergid, Ro-Dopa (Δ-Δ),
 Testosteron+Ro-Dopa (...),
 Ro-Dopa (---).

Dosierung: Testosteron (4 x 10 mg/kg),
 PCPA (3 x 100 mg/kg),
 Mesorpydin (0,5 mg/kg),
 Methysergid (1 mg/kg),
 Ro 4-4602 (50 mg/kg),
 L-Dopa (200 mg/kg).

Ordinate: Anzahl mounts bzw. fights/15 min.

Diskussion

Eine Verstärkung des "mounting behaviour" scheint nach Tagliamonte u.a. (1970) hauptsächlich von der Serotoninkonzentration im Gehirn abzuhängen. Neben einer Senkung der Serotoninkonzentration bewirkt p-Chlorophenylalanin auch eine Senkung der Noradrenalin-, und nach Keller (1972) auch eine Senkung der Dopaminkonzentration. "Mounting behaviour" wurde auch bei männlichen Ratten beobachtet, nachdem die Serotoninkonzentration mit Reserpin und L-Dopa plus Ro 4-4602 gesenkt worden war (5, 6). Diese Ergebnisse aus der Literatur, zusammen mit denen dieser Arbeit, führen zu dem Schluss, dass der Antiserotonineffekt wohl einen ursächlichen Einfluss auf die Steigerung des "mounting behaviour" bei männlichen Ratten hat. Damit ist zugleich ausgesagt, dass eine Steigerung des "mounting behaviour" nicht allein durch einen spezifischen Effekt von p-Chlorophenylalanin erklärt werden kann. Gering gesteigertes Sexualverhalten ist auch nach Mesorgydin beschrieben (36), für Methysergid und WA 335-BS finden sich keine diesbezüglichen Angaben, während sie hier eine deutlich aktivierende Wirkung zeigten.

Eine Steigerung des "mounting behaviour" stellte Benkert u.a. (1972) bei Versuchen mit p-Chlorophenylalanin, L-Dopa plus Ro 4-4602 gegenüber p-Chlorophenylalanin allein fest. Eine Erhöhung der Dopaminkonzentration durch L-Dopa plus Ro 4-4602 soll dieses Verhalten hervorrufen (2, 3, 10).

Im Gegensatz zu Benkert u.a. (1972), dessen Versuche vor-
mittags stattfanden, wurde hier eine signifikante Vermin-
derung des "mounting behaviour" durch zusätzliche Gabe von
L-Dopa plus Ro 4-4602 gefunden. Die Versuche dieser Arbeit
fanden nachts statt und es wurde noch mit Testosteron vor-
behandelt. "Fighting" war im Gegensatz zu "mounting" signi-
fikanter erhöht. Eventuell kann ein steigernder Einfluss von
Dopamin auf das "fighting behaviour" angenommen werden.

Zusammenfassung

- 1) Amantadin besitzt neben der Antiparkinsonwirkung auch verstärkenden Einfluss auf die motorische Aktivität. Das Ziel dieser Arbeit war es, den Mechanismus dieser Steigerung im Hinblick auf den Noradrenalinstoffwechsel aufzuklären.

Amantadin entfaltet folgende Wirkungen:

- a) Der Serotoninstoffwechsel, vor allem aber der Noradrenalinstoffwechsel im Zentralnervensystem, werden nicht in der gleichen Weise beeinflusst wie der Dopaminstoffwechsel, d.h. es tritt keine, zumindest keine hier nachweisbare, Freisetzung oder Umsatzsteigerung auf. Dies lässt sich aus den biochemischen Befunden ersehen.
- b) Da Amantadin die Amphetaminwirkung verstärkt, muss man annehmen, dass Amantadin peripher (50) und zentral wie Desmethylimipramin und analoge Verbindungen den Noradrenalinrücktransport in den Nervenendigungen hemmt.
- c) Wegen der wesentlich stärker stimulierenden Wirkung von Dimethylaminoadamantan (D_{145}) im Vergleich zu den anderen Amantadinverbindungen muss man vermuten, dass Dimethylaminoadamantan (D_{145}) ein anderes Wirkungsprofil besitzt. Zum einen setzt Dimethylaminoadamantan (D_{145}) Noradrenalin frei, wie aus der Erhöhung des Turnovers zu ersehen ist; zum andern ruft Dimethylaminoadamantan (D_{145}) nach Vorbehandlung mit Reserpin

und a-Methyl-p-Tyrosinester (H44/68) sofort nach der Injektion eine Hyperaktivität hervor, die im Vergleich zur motorischen Aktivität nach Dimethylaminoadamantan (D_{145}) allein signifikant höher ist. Im Unterschied zu Amantadin kann dieser Effekt nur auf eine direkte Rezeptorstimulation zurückgeführt werden.

- 2) "Mounting behaviour" bei männlichen Ratten wird nicht nur durch die Kombination von Testosteron plus p-Chlorophenylalanin hervorgerufen. Auch durch die Gabe von Testosteron in Kombination mit den Substanzen Mesorgydin, Methysergid und WA 335-BS, die unter anderem einen antiserotonergen Effekt haben, wird "mounting behaviour" bei männlichen Ratten ausgelöst. Auf Grund dieser Ergebnisse und zitierten Beobachtungen ist eine ursächliche Beziehung zwischen dem Antiserotonineffekt und der Aktivierung des "mounting behaviour" bei männlichen Ratten anzunehmen. Die spezifische Wirkung der Substanz p-Chlorophenylalanin allein kann für dieses Verhalten nicht verantwortlich gemacht werden.

Die Kombination von Testosteron, p-Chlorophenylalanin mit L-Dopa plus Ro 4-4602 hatte eine vermindernde Wirkung auf das "mounting behaviour", die stimulierende Wirkung einer zusätzlich erhöhten Dopaminkonzentration konnte nicht bestätigt werden.

Teil III

Literaturangaben

- (1) Baldessarini, R.J., Lepinski, J.F. and Chace, R.V.:
Effects of amantadine-hydrochlorid on catecholamine metabolism in the rat brain.
Bioch. Pharmac. 21, 77 - 87 (1972)
- (2) Bartholini, G., Blum, I.E. and Pletscher, A.:
Dopa induced locomotor stimulation after inhibition of extracerebral decarboxylase.
J. Pharm. Pharmac. 21, 297 - 301 (1969)
- (3) Bartholini, G., Da Prada, M. and Pletscher, A.:
Decrease of cerebral 5-hydroxytryptamin by 3, 4-dihydroxyphenylalanin after inhibition of extracerebral decarboxylase.
J. Pharm. Pharmac. 20, 228 - 229 (1968)
- (4) Bédard, P., Carlsson, A., Fuxe, K. and Lundqvist, M.:
Origin of 5-Hydroxytryptophan and L-Dopa accumulating in brain following decarboxylase inhibition.
Arch. Pharmac. 269, 1 - 6 (1971)
- (5) Benkert, O., Renz, A. and Matussek, N.:
Dopamine, norepinephrine and 5-hydroxytryptamin in relation to motor activity, fighting and mounting behaviour.
II.: L-Dopa and Dops in combination with Ro 4-4602 and p-Chlorophenylalanine.
Neuropharmacol. (in press) (1972 b)
- (6) Benkert, O., Gluba, H. and Matussek, N.:
I.: L-Dopa and DL-Threo-Dihydroxyphenylserin in combination with Ro 4-4602, pargylin and reserpin.
Neuropharmac. 12, 177 - 186 (1973)
- (7) Bertolini, N. and Vergoni, W.:
Effetto eccito-sessuale della p-cloro-N-metilamfetamina (PCMA) associata a testosterone nel ratto maschio.
Riv. Farmac. Ter. 1, 423 (1970)

- (8) Bickel, H.H., Sulser, F. and Brodie, B.B.:
Conversion of tranquilizers to antidepressant
by removal of one N-methylgroup.
Life Sci. 4, 427 (1963)
- (9) Bloom, F.E. and Giarman, N.J.:
Physiologic and pharmacologic considerations
of biogenic amines in the nervous system.
A. Rev. Pharmac. 8, 229 - 258 (1968)
- (10) Butcher, L.L. and Engel, J.:
Behavioral and biochemical effects of L-Dopa
after peripheral decarboxylase inhibition.
Brain Res. 15, 233 - 242 (1969)
- (11) Corrodi, A.:
Biochemical and pharmacological aspects of
a new series of substances interfering with
biosynthesis and inactivation of catecholamines.
Perg. Press, Czechoslovak Medical Press (1965)
- (12) Costa, E. and Gropetti, A.:
Biosynthesis and storage of catecholamines
in tissues of rats injected with various doses
of d-amphetamines. Amphetamines and related
compounds.
Raven Press New York (1970)
- (13) Costa, E. and Garattini, S.:
Amphetamines and related compounds.
Raven Press New York (1970)
- (14) Donoso, A. O., Stefano, F.J.E., Biscardi, A.U. and
Cukier, J.:
Effects of castration on hypothalamic catecholamines.
Amer. J. Pharmac. 212, 737 (1967)
- (15) Engelhardt, K.:
personal communication (1971)

- (16) Farnebo, L.O., Fuxe, K., Goldstein, M., Hamberger, B. and Ungerstedt, U.:
Dopamine and noradrenaline releasing action of amantadine in the central and peripheral nervous system: a possible mode of action in Parkinson's disease.
Europ. J. Pharmac 16, 27 - 38 (1971)
- (17) Fuxe, K. and Ungerstedt, U.:
Histochemical, biochemical and functional studies on central monoamine neurons after acute and chronic amphetamine administration. Amphetamine and related compounds
Ed. E. Costa and S. Garattini, Raven Press, New York 257 (1970)
- (18) Gawienowski, A. M. and Hodgen, G.D.:
Homosexual activity in male rats after p-chlorophenylalanine: effects of hypophysectomy and testosterone. Physiol. and Behaviour, Berlin 7, 551 - 555 (1971)
- (19) Gessa, G.L., Tagliamonte, A., Tagliamonte, P. and Brodie, B.B.:
Essential role of testosterone in sexual stimulation induced by p-chlorophenylalanine in male rats. Nature 227, 616 - 617 (1970)
- (20) Gessa, G.L., Tagliamonte A. and Tagliamonte, P.:
Aphrodisiac effect of p-chlorophenylalanine. Science 171, 706 (1970)
- (21) McGeer, E.G., Fibinger, H.C. and McGeer, P.L.:
Brain Enzymes in Amantadine-treated rats. Biochem. Med. 6, 189 - 191 (1972)
- (22) Goodman, L.S. and Gillman, A.:
The pharmacological basis of therapeutics. The McMillan-Company sec. Printing (1971)
- (23) Grelak, R.P., Clark, R., Stump, J.M. and Vernier, V.G.:
Amantadine-Dopamine interaction: possible mode of action in parkinsonism Science 169, 203 (1970)

- (24) Jori, A., Carrara, M.C. and Garattini, S.:
Importance of NA-Synthesis for interaction
between desipramin and reserpin
J. Pharm. Pharmacol. 18, 619 (1966)
- (25) Keller, H.:
Depletion of cerebral monoamines by
p-Chlorophenylalanine in the cat.
Separatum Experientia 28, 177 (1972)
- (26) Koe, B.K. and Weissman, A.:
p-chlorophenylalanine: a specific depletor
of brain serotonin.
J. Pharmac. exp. Ther. 154, 499 - 516 (1966)
- (27) Kopin, J.J., Fischer, J.E., Musacchio, J.M.,
Horst, W.D. and Weise, V.K.:
"false neurochemical transmitters" and
the mechanism of sympathetic blockade by
monoamine oxidase inhibitors.
J. Pharmac. exp. Ther. 147, 186 - 193 (1969)
- (28) Ladisich, W., Volbehr, H. and Matussek, N.:
Paradoxical Amphetamine-effect in hyperactive
rats in relation to norepinephrine metabolism.
Neuropharmac. 9, 303 (1970)
- (29) May, J., Sewinska, A. and Baran, K.:
The effect of Amantadine on motor activity and
Catalepsy in rats.
Psychopharmacol., Berl. 24, 296 - 307 (1972)
- (30) Maickel, R.F., Cox, R.H. jr., Saillant, J. and
Miller, F.P.:
A method for the determination of serotonin
and norepinephrine indiscrete areas of rat brain.
Int. J. Neuropharmacol. 7, 275 (1968)

- (31) Malmnäs, C.O. and Meyerson, B.J.:
p-Chlorophenylalanine and copulatory
behaviour in the male rat.
Nature 232, 398 - 400 (1971)
- (32) Meyerson, J. and Lewander, T.:
Serotonin, synthesis inhibition and oestrus
behaviour in female rats.
Life science, 2, 661 - 671 (1970)
- (33) Matussek, N. und Pohlmeier, H.:
Zentrale Mechanismen und psychopathologische
Gesichtspunkte der Antriebssteigerung bei
gehemmten Depressionen.
Pharmacopsychiatrie und Psychopathologie.
Hrsg. H. Kranz und K. Heinrich Thieme Verlag
Stuttgart, S. 195 (1967)
- (34) Matussek, N. und Rüter, E.:
Wirkungsmechanismus der Reserpinumkehr mit
Desmethylinipramin.
Med. Pharmacol. exp. 12, 217 (1965)
- (35) Neff, N.H., Berett, R.E. and Costa, E.:
Kinetic and fluorescent histochemical analysis
of the serotonin compartments in rat pineal gland.
Europ. J. Pharmac. 5, 348 - 356 (1969)
- (36) Podvalova, J. and Dlabac, A.:
Aggressive behaviour of rats induced by
mesorgydine (Lysenyl, Spo/a).
Activitas nerv. sup. 12, 81 (1970)
- (37) Rüter, E.:
Mechanismus der Antriebssteigerung und -hemmung
durch Psychopharmaca.
Dissertation, München (1966)
- (38) Salis, J. and Dewsbury, D.A.:
p-chlorophenylalanine facilitates copulatory
behaviour in male rats.
Nature, 232, 400 (1971)

- (39) Scatton, B., Cheramy, A., Desson, M.J. and Glowinski, J.:
Increased synthesis and release of dopamine in
the striatum of the rat after amantadine treatment.
Europ. J. Pharmac. 13, 131 (1970)
- (40) Schwab, R.S. and England, A. C. jr.:
Amantadine-HCL (Symmetrel) and its relation
to L-Dopa in the treatment of parkinson's
desease.
Transact. Amer. Neurol. Ass. 94, 85 (1969)
- (41) Sheard, H.:
The effect of p-chlorophenylalanine on
behaviour in rats: relation to brain serotonin
and 5-hydroxyindolacetic acid.
Brain research 15, 524 (1969)
- (42) Shillito, E.E.:
The effect of p-chlorophenylalanine on social
interactions of male rats.
Brit. J. Pharmac. 38, 305 (1970)
- (43) Sigg, E.B., Day, C. and Colombo, C.:
Endocrine factors in isolation-induced aggressivness
in rodents.
Endocrinology 78, 679 (1966)
- (44) Simon, F., Malatray, J. and Boissier, J.R.:
Antagonism by amantadine of chlorpromazin
induced catalepsy.
J. Pharmac. Pharmacol. 22, 546 (1970)
- (45) Strömberg, U. and Svensson, T.H.:
Further studies on the mode of action of
amantadine.
Acta pharmacol. et toxicol. 30, 161 - 171 (1971)
- (46) Sulser, F., Gwens, M.L. and Dingell, J.V.:
On the mechanism of amphetamine potentiation
by Desipramin (DMJ)
Life Sci. 5, 2005 (1966)

- (47) Svensson, T.H. and Strömberg, U.:
Potentiation by amantadine-hydrochlorid
of L-Dopa-induced effects in mice.
J. Pharm. Pharmac. 22, 639 (1970)
- (48) Svensson, T.H. and Thieme, G.:
An investigations of a new instrument to
measure motor activity of small animal.
Psychopharmacologia (Berlin) 14, 157 (1965)
- (49) Tagliamonte, P., Tagliamonte, A., Gessa, G.L.
and Brodie, B.B.:
Compulsive sexual activity induced by
p-chlorophenylalanine in normal and pinealectomized
male rats.
Science 166, 1433 - 1435 (1969)
- (50) Tagliamonte, A., Tagliamonte, P. and Gessa, G.L.:
Reversal of Pargyline induced inhibition of
sexual behaviour in male rats by p-chlorophenyl-
alanine.
Nature 230, 244 - 245 (1971)
- (51) Tagliamonte, A., Tagliamonte, P., Perez-Cruit, J.,
Stern, St. and Gessa, G.L.:
Effect of psychotropic drugs on tryptophan
concentration in the rat brain.
J. Pharmac. Exp. Ther. 177, 475 - 480 (1971)
- (52) Valzelli, L., Consolo, S. and Marpurgo, C.:
Influence of imipramin like drugs on the
metabolism of amphetamine. Proceedings of
the first Int. Symposium on antidepressant
Drugs. Ed. S. Garattini and M.N.G. Dukes.
Excerpta Med. Amsterdam (1967)
- (53) Vale, S., Espejel, N.A. and Dominguez, J.C.:
Amantadine in depression.
Lancet 11, 437 (1971)

- (54) Vernier, V.G., Harmon, J.B., Stump, J.M., Lynes, T.E., Marvel, J.F. and Smith, D.H.:
The toxicology and pharmacology prop. amantadine-hydrochlorid.
Toxic. Appl. Pharmac. 15, 642 (1969)
- (55) Voigtlander v., P.F. and Moore, K.E.:
Dopamine: release from the brain in vivo by amantadine.
Science 174, 408 - 410 (1971)
- (56) Votava, Z. and Lamplova, J.:
Antiserotonin activity in some ergolenyl and isoergolenyl derivates in comparison with LSD and the influence of monoamine oxidase inhibitors on this antiserotonin effect.
Neuropharmac. 2, 68 (1961)
- (57) Whalen, E. and Luttge, W.G.:
p-chlorophenylalanin-methyl-ester:
an aphrodisiac?
Science 169, 1000 (1970)
- (58) Zetler, C.:
Anticataleptic actions of amantadine-hydrochlorid.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 266, 276 (1970)

LEBENS LAUF

Am 31. 12. 1947 wurde ich als Sohn von Rudolf Wilhelm Eversmann, von Beruf Jurist, und von Lieselotte Eversmann, geb. Peters, von Beruf Hausfrau, in Göggingen geboren. Seit 1950 wohnte ich in München. Nach 4-jähriger Volksschulzeit besuchte ich für 9 Jahre das humanistische Maximilians-Gymnasium München. Nach dem Abitur 1967 studierte ich in Würzburg Medizin, nach erfolgreich bestandenen Physikum wechselte ich für 3 Semester an die Universität Freiburg und kam für die restlichen Semester bis zum Staatsexamen zurück nach München. Im Sommer 1973 bestand ich das Staatsexamen mit der Note "sehr gut".

Meine Doktorarbeit begann ich 1971 am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München und setzte sie Ende 1971 an der Nervenklinik der Universität München fort.

Die chir. Medizinal-Assistentenzeit verbrachte ich in Haus- ham, im Frühjahr 1974 arbeitete ich auf der inneren und gynäko- logischen Abteilung des Krankenhauses München-Schwabing. Weitere 6 Monate erfolgten auf der II. Med. Abteilung der Universität München. Im Anschluss daran bekam ich eine Stelle als wiss. Assistent an der II. Med. Abteilung des Krankenhau- ses München-Schwabing. Dort arbeitete ich für ca. 1/2 Jahr auf dem Gebiet der Herzkatheterisierung. Ab Oktober 1975 wur- de ich zur Bundeswehr einberufen.

